

Cefazolin の抗菌作用, 特に溶菌作用に関する研究

徐 慶一郎

関東通信病院臨床検査科

三辺武右衛門

同 耳 鼻 科

I ま え が き

Cephalosporin C 系の薬剤の1つとしてこのたび藤沢薬品工業株式会社中央研究所で開発された Cefazolin (CEZ) は, *Cephalosporium acremonium* の産生する Cephalosporin C から得られる 7-aminocephalosporanic acid (7-ACA) の7位に 1-(1H)-tetrazolacetyl 基を導入し, さらに3位の methyl 基につく acetoxyl 基を 2-(5-methyl-1,3,4-thiadiazolyl)-thio 基で置換した安定な新化合物である。

われわれは, 臨床材料から得られた大腸菌45株と黄色ブドウ球菌9株に対する本剤の MIC 値を Cephalothin (CET), Cephaloridine (CER), Cephalexin (CEX) のそれと比較する一方, 本剤の黄色ブドウ球菌 209P 株及び大腸菌 NIH-J 株に対する抗菌作用を, 両菌株の増殖曲線に及ぼす影響から検討した。

さらに, CEZ 投与後の血清について, 両菌株に対する抗菌効果を, 両菌株の増殖曲線に及ぼす影響から検討した。

II 実験材料及び実験方法

A. 使用菌株: MIC 測定に使用された黄色ブドウ球菌9株と, 大腸菌45株は, それぞれ, 当院耳鼻科及び泌尿器科患者材料から最近分離されたものである。

また, 標準菌株 *Staph. aureus* 209P 株及び NIH-J 株は最初予研から分与され, 当科で継代保存されたものである。

B. MIC 測定法: 寒天平板希釈法で, 培地としては pH 7.4 の ミューラーヒントン改良培地 (ニッサン), 接種菌はトリプトソイブイオン16時間培養液を100倍に希釈し, これを滴下器を用いて, 抗生剤を予め含有させた寒天平板培地上に接種した。

C. Biophotometer (Jouan) による増殖曲線の記録

Biophotometer の各キュベット (10ml 入) には, 16時間トリプトソイブイオン培養の *Staph. aureus* 209P 株, 及び *E. coli* NIH-J 株各菌液を最終濃度が1000倍

になるように投入, これに培養の最初から, あるいは, 増殖曲線で対数期の中央に達した時点で CEZ, CET, CER, CEX の各薬剤最終濃度が, 10mcg あるいは 50 mcg/ml になるように添加投入, 自動記録観察した。CEZ 投与 (筋注) 後の血清については, 投与前, 投与後30分, 1時間, 3時間, 6時間の血清を各1ml ずつキュベットに投入, 最終的には, 10倍希釈されたものにつき, 自動記録観察した。

III 実験成績

A) 新鮮分離菌株に対する MIC 値測定

Cephalosporin C 系薬剤 CET, CER, CEX, CEZ の4種に対する *E. coli* 45株と *Staph. aureus* 9株に対する MIC 値の比較は, 表1のごとくで, CEZ の MIC 値は *E. coli* に対し, 12.5mcg/ml と 0.78mcg/ml の間にあり, *Staph. aureus* に対しては, 3.12mcg/ml と 0.39mcg/ml の間にある。このうち, *E. coli* 45株に対する CEZ の MIC 値を, CER 及び CEX のそれとを, 相関表 (表2) を作り比較すると, CER, CEX のいずれに対しても, CEZ の MIC 値がやや低く感性がより高いことが示された。

これに反し, *Staph. aureus* に対しては, CEZ の MIC 値がやや高めであることが, 表1の成績より推定された。

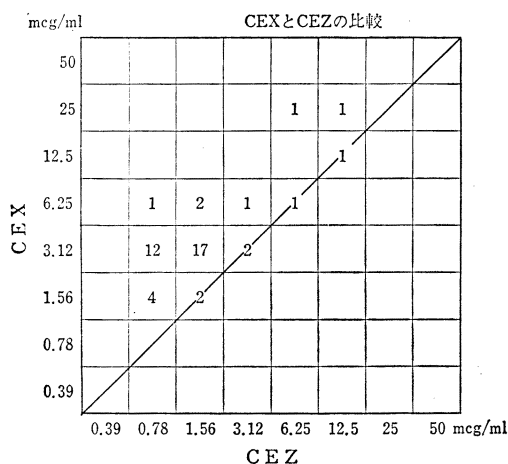
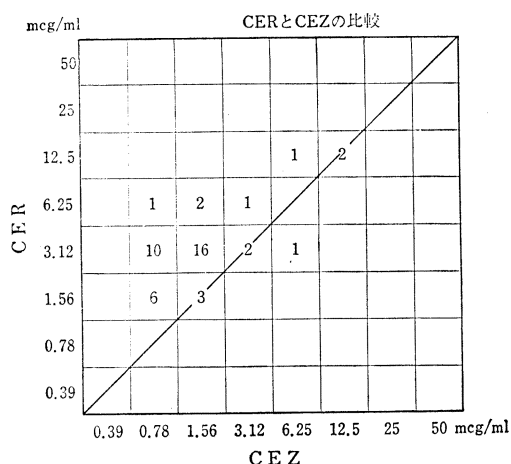
B) *Staph. aureus* 及び *E. coli* 増殖曲線に及ぼす CEZ の直接効果の検討

表1 Cephalosporin C 系薬剤に対する *E. coli* 45株と *Staph. aureus* 9株の感性比較

	MIC 値 mcg/ml										
	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.2	0.1	
CET		4	32	6	3		②	②	③	②	
CER			3	4	29	9				⑨	
CEX		2	1	5	31	6①				⑧	
CEZ			2	1	3①	21	17③	⑤			

○内数字は *Staph. aureus*, 他は *E. coli* の菌株数

表2 Cephalosporin C 系薬剤に対する *E. coli* 45 株の感性の比較



1) *Staph. aureus* 209 P 株増殖曲線に及ぼす効果
CET, CER, CEX, CEZ 各 10 mcg/ml を 209 P 株培養対数期の初期に作用させると、いずれにも、曲線の低下が認められ、溶菌作用のあることが確かめられた。
この際、CEX では一旦上昇後下降する傾向が認められ、他の 3 種とはやや曲線の状況が異なることが明らかにされた (図 1)。

2) *E. coli* NIH-J 株増殖曲線に及ぼす効果
CEX, CEZ の各 10 mcg 及び 50 mcg/ml を *E. coli*

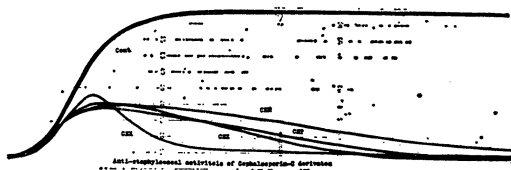


図1 Anti-staphylococcal activities of Cephalosporin C derivatives

NIH-J 株培養対数期中期に作用させると CEZ では作用 10 分後には急激な曲線の降下が認められ、それが強い溶菌作用にもとづいていることが菌液の塗抹、染色、鏡検により確かめられた。

これに反し、CEX 50 mcg/ml では増殖の阻止がみられず、また 50 mcg/ml では一旦上昇後下降し、中間の濃度を維持する曲線が得られた。CEX 作用後曲線の上昇時期に菌の染色鏡検を行なうと菌の著明な長大化及び連鎖形成が認められ、一部ではスフェロプラスト形成も認められた (図 2)。

以上の作用を他の Cephalosporin C 系薬剤 CER, CET, AB-PC 各 50 mcg/ml について検討してみたところ、同時に行なつた CEZ 50 mcg/ml 作用後の曲線

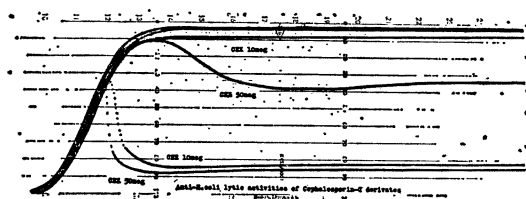


図2 Anti-*E. coli* lytic activities of Cephalosporin C derivatives

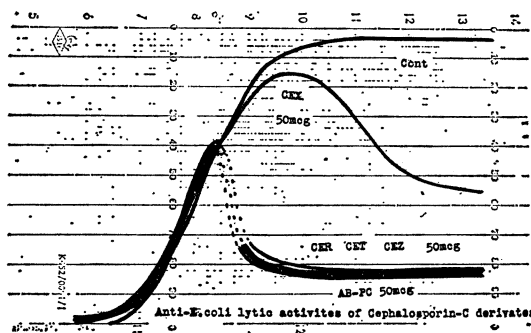


図3 Anti-*E. coli* lytic activities of Cephalosporin C derivatives

以外は、いずれも CEZ と同様、投与後 10 分～15 分で急激な曲線の下降がみられ、ほぼ同様な溶菌作用のあることが認められた (図 3)。

C) CEZ 投与後血清の *Staph. aureus* 209 P 株及び *E. coli* NIH-J 株増殖曲線に及ぼす影響

1) *Staph. aureus* 209 P 株増殖曲線に及ぼす影響

CEZ 500 mg (筋注) 投与前及び投与後 30 分, 1 時間, 3 時間, 6 時間の血清を, それぞれ 1 ml ずつ各キューベットに投入, 最終的に 10 倍稀釈された血清の効果を, 増殖曲線に及ぼす効果から検討してみると, 投与後の血清は, 投与後 30 分から 6 時間後まで, すべて強い抗菌作用を有していることが, 増殖曲線の完全な上昇阻止から明らかにされた (図 4)。

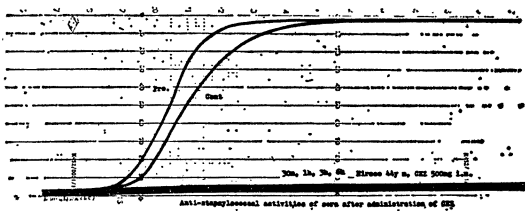


図 4 Anti-staphylococcal activities of sera after administration of CEZ

2) *E. coli* NIH-J 株増殖曲線に及ぼす影響

CEZ 500 mg (筋注) 投与前及び投与後 30 分, 1 時間, 3 時間, 6 時間の各血清を 1.0 ml ずつ, 培養対数期の中期の菌液に, 添加作用させると, 添加 10～15 分後には, 薬剤投与前の血清を含めて, 曲線の急激な降下が認められ, その後培養を続けると, 投与前血清, 6 時間後, 3

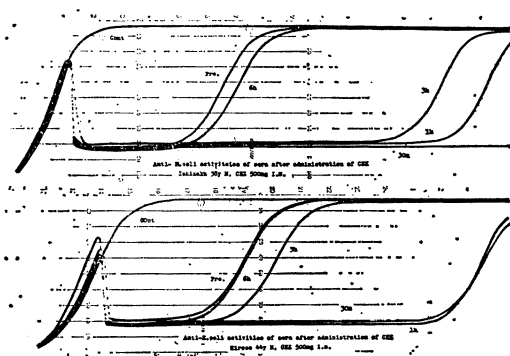


図 5 Anti-*E. coli* activities of sera after administration of CEZ

(上) ISHIZAKA, 38 y, M. CEZ 500 mg I. M.

(下) HIROSE, 44 y, M. CEZ 500 mg I. M.

時間後, 1 時間後, 30 分後の順に曲線の立ち上りが認められた (図 5)。

このような曲線は, 2 名の実験例で全く一致しており, NIH-J 株に対する血清の抗菌作用は, 先ず正常溶菌素の作用で始められ, これに CEZ による特異な抗菌力が加わっていることが, 確かめられた。なお, 以上の成績から CEZ 投与後の *E. coli* に対する抗菌力は, 投与後 30 分, 1 時間, 3 時間, 6 時間の順に強く, 6 時間では, 投与前のレベルにもどることが明らかにされた。

IV 考案及び結論

Cephalosporin C 系薬剤が, 他の抗生物質に較べて優れているのは,

1) グラム陽性菌のみならず, 大腸菌を含む, グラム陰性菌に対し, 抗菌力を示し, 抗菌スペクトルが大きいこと。

2) 抗菌作用が, ペニシリン系と同様, 殺菌的で, 強い溶菌作用を示すこと。

3) 問題とすべき副作用を保有しないこと, などの諸点があげられよう。

われわれは, 先に CER に PC-G 同様の溶菌作用のあることを, 増殖曲線の観察から経験したが, 新抗生剤 CEZ にも CER, CET, AB-PC と同様な, 溶菌作用のあることが, 明らかにされた。

CEZ の溶菌作用は, 培養対数期にある *E. coli* NIH-J 株に対しても, 極めて顕著であり, Cephalosporin 系薬剤中, CEX 以外は, ほぼ同様な作用をもつことが増殖曲線に及ぼす影響から確かめられた。

CEX では, 作用後, 菌の長大化と連鎖形成が著明で, このような効果は, 他の Cephalosporin 系薬剤でも, 条件により軽度認められることもあるようであるが, いずれにしても, CEX のごとく顕著でなく, その間に差が認められた。

CEZ 投与後の血清の抗菌作用を, *Staph. aureus* 209 P 株及び *E. coli* NIH-J 株両者の増殖曲線に及ぼす影響から検討してみると, 前者に対して強い抗菌力を示すことはもとより, 後者に対しても, 強い抗菌力を示すことが明らかにされたが, その作用の 1 つには, CEZ 投与前にも認められる正常血清の溶菌作用の加わっていることが, 明らかにされた。

なお, この正常血清の溶菌作用は, 56°C 30 分の加熱で破壊されるが, 一旦破壊されると補体の添加によつても, リゾチームの添加によつてもその作用が回復しないことが, 実験的に確かめられた。

このような大腸菌に対する正常殺菌素の存在は以前か

ら認められているが、Biophotometer を用いてこのような作用が明瞭に観察されることは、今後の研究手段として極めて有効と考えられる。日常分離菌に対してこのような溶菌作用がどの程度に見出せるかは、今後検討すべき興味ある課題といえよう。

以上、われわれは、新抗生剤 Cefazolin が Cephalosporin C 系薬剤の特性として、黄色ブドウ球菌並びに大腸菌に対し強い抗菌力を有し、その作用が殺菌かつ溶菌的であり、本剤投与後の血清もブドウ球菌 209 P 株及び大腸菌 NIH-J 株に対し、強い抗菌力を有することを、Biophotometer により自動記録した増殖曲線に及ぼす影響から証明した。

本論文の要旨は第18回日本化学療法学会総会において

発表した。

文 献

- 1) 徐慶一郎：Biophotometer について。医薬の門 7：192—197, 1967
- 2) 小酒井望, 小栗豊子：最近分離した各種病原細菌の Cephalosporin その他抗生物質に対する感受性。J. Antibiotics, Ser. B 18：302—305, 1965
- 3) 五島瑳智子, 桑原章吾：Cephalosporin の抗菌作用。J. Antibiotics, Ser. B 18：302—305, 1965
- 4) Glaxo Research：“Cephalexin” p. 19—27 Mar. 1968

STUDIES ON THE ANTIBACTERIAL, ESPECIALLY BACTERIOLYTIC ACTION OF CEFAZOLIN

KEIICHIRO JO

Clinical Laboratories, Kanto Teishin Hospital

BUEMON SANBE

Department of Oto-Rhino-Laryngology, Kanto Teishin Hospital

1) The MIC values of Cefazolin were a little lower for newly isolated *E. coli* (45 strains), and a little higher for *Staph. aureus* (9 strains) than those of other Cephalosporin C derivatives, such as Cephalothin, Cephaloridine and Cephalexin.

2) The bacteriolytic action of Cefazolin was observed in the automatically recorded growth curve of *Staph. aureus* 209 P strain and *E. coli* NIH-J strain, using Biophotometer Jouan. The same action against the above two strains was also observed in sera after an intramuscular injection of Cefazolin 500 mg. In the course of experiments the so-called normal bacteriolysin against *E. coli* was clearly observed in the sera of patients before treatment.